



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA**

TÍTULO

Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa* comparado con gentamicina

TESIS PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE MEDICO CIRUJANO

AUTOR:

Elías Armas Zavaleta (<https://orcid.org/0000-0001-5864-2223>)

ASESORES:

Mg. Polo Gamboa Jaime Abelardo (<https://orcid.org/0000-0002-3768-8051>)

Dra. Chian García Ana Maria (<https://orcid.org/0000-0003-0907-5482>)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

TRUJILLO, PERÚ

2019

DEDICATORIA

A mi padre por ser un buen ejemplo
De superación en todo el tiempo.
Especialmente a mi madre por su apoyo.

A mi familia por ayudarme en este camino.
Gracias a ustedes se puede decir si se pudo.

ELIAS ARMAS ZAVALETA

AGRADECIMIENTO

A JEHOVA

Agradezco a JEHOVA por la que me dio al
Ayudarme a reconocer mí vocación y terminarla
Con éxito en toda esta travesía llena de luchas y
Obstáculos.

A UNIVERSIDAD

Por darme la oportunidad de formarme
En valores, conocimientos y habilidades
Prácticas para el adecuado ejercicio de la
Profesión.

A MIS ASESORES

Los cuales me asesoraron para
poder concluir con éxito este
presente trabajo de
investigación.

ELIAS ARMAS ZAVALETA

PÁGINA DEL JURADO

Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa* comparado con gentamicina

PRESIDENTE

SECRETARIO

VOCAL

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Mi persona ELIAS ARMAS ZAVALETA, con DNI N°48515583 con la finalidad de seguir las normativas de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Medicina, declaro que lo presentado en el presente trabajo es verdadero y autentico.

De igual manera, declaro que lo presentado es verdadero y original.

Por lo cual me responsabilizo ante cualquier plagio, omisión u ocultamiento de los datos y documentos aportados por lo tanto estoy de acuerdo con las normativas vigentes de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, Mayo de 2019

ELIAS ARMAS ZAVALETA

PRESENTACIÓN

Distinguidos Jurados:

De acuerdo a las normativas de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *EUCALYPTUS GLOBULUS* SOBRE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILINO RESISTENTE Y PSEUDOMONAS AERUGINOSA* COMPARADO CON GENTAMICINA la cual expongo ante ustedes para su evaluación y cumplimiento de los requisitos propuestos para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

ELIAS ARMAS ZAVALETA

INDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
PÁGINA DEL JURADO	iii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD.....	iv
PRESENTACIÓN	v
INDICE	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	9
II. MÉTODO	20
2.1 Tipo y diseño de investigación.....	20
2.2 Operacionalización de variables	21
2.3 Población, muestra y muestreo:	22
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.	23
2.5 Procedimiento	23
2.6 Métodos de análisis de datos	24
2.7 Aspectos éticos:	24
III. RESULTADOS	25
IV. DISCUSIÓN	29
V. CONCLUSIONES	32
VI. RECOMENDACIONES	33

RESUMEN

El principal objetivo fue determinar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* en *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 comparado con gentamicina a 10 µg, en un estudio in vitro. Se elaboró un diseño experimental, en la cual se evaluó las concentraciones del aceite de 100%, 75%, 50% y 25%, mediante el método de disco difusión de Kirby-Bauer, realizando 9 repeticiones para cada concentración, más el tratamiento con gentamicina 10 µg y agua destilada. Se observó que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* tuvo actividad antibiótica contra *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, en las 4 concentraciones; considerándose eficaz solo al 75% y 100% porque formó halos de inhibición de 16.22 y 19.56 mm (DS $0,726 \pm 0,242$ IC 95%: de 19,00 a 20,11) respectivamente, superior al valor de sensibilidad (>15 mm), según el estándar M100 del CLSI. Sin embargo, no fue eficaz contra *Pseudomonas aeruginosa*, en la cual tuvo leve actividad antibacteriana solo al 100% (9 mm) (DS $0,707 \pm 0,236$ IC 95%: de 8,46 a 9,54). Se analizó los datos obtenidos mediante la prueba ANOVA, encontrando que existe diferencia altamente significativa (0.000) $p < 0.01$ entre las medias de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones y el antibiótico. Se concluye que, el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* es eficaz sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) a concentraciones de 75% y 100% y no eficaz sobre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Palabras clave: Eficacia antimicrobiana, *Eucalyptus globulus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, gentamicina

ABSTRACT

The main objective was to determine the antibacterial efficacy of *Eucalyptus globulus* essential oil in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 compared to gentamicin at 10 µg, in an in vitro study. An experimental design was elaborated, in which the performance of the oil was evaluated 100%, 75%, 50% and 25%, by means of the disc method of Kirby-Bauer, performing 9 repetitions for each concentration, plus the treatment with 10 µg Gentamicin and distilled water. It was observed that the essential oil of *Eucalyptus globulus* had antibiotic activity against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, in the 4 steps; considering only effective at 75% and 100% because it formed a halo of inhibition of 16.22 and 19.56 mm (DS 0.726 ± 0.242 IC 95%: from 19.00 to 20.11) respectively, higher than the sensitivity value (> 15 mm), According to the M100 standard of the CLSI. However, it was not effective against *Pseudomonas aeruginosa*, in which it had a level of antibacterial activity only at 100% (9 mm) (SD 0.707 ± 0.236 95% CI: from 8.46 to 9.54). The data were analyzed by the ANOVA test, finding that there is a highly significant difference (0.000) $p < 0.01$ between the media of the inhibitors. It is concluded that the essential oil of *Eucalyptus globulus* is effective on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) at 75% and 100% and is not effective on *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Key words: Antimicrobial efficacy, *Eucalyptus globulus*, *Pseudomonas aeruginosa*, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, gentamicin.

I. INTRODUCCIÓN

Con respecto a la realidad problemática.

Alrededor del 20 al 50% de la población mundial porta de manera asintomática *Staphylococcus aureus*, los cuales pueden ser portadores transitorios y permanentes, produciendo infecciones frecuentes y oportunistas cuando se rompen las barreras mecánicas. La colonización es más frecuente en ambientes relacionados con cuidados de la salud, hemodiálisis, lesiones cutáneas, VIH y usuarios de drogas intravenosas. La cepa de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) coloniza de manera frecuente la nasofaringe.¹

Los más propensos a colonizarse de *Staphylococcus aureus* MRSA personal relacionado con la salud alcanzando un 50% en portadores nasales, siendo los profesionales de la salud los causantes de la propagación de las cepas resistentes.²

Según las investigaciones realizadas por Moran et al³ en 2007 las cepas de MRSA comunitarios fueron causantes del 80% de infecciones de piel. En Estados Unidos, según Fridkin et al⁴ las tasas de infección en pacientes pediátricos son de 16 a 70 casos por 100 000 niños. De acuerdo a la investigación del Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC)⁵ en 2007 la incidencia para infecciones invasivas por MRSA fue del 7% y para Popovich et al⁶ es responsable del 64% de infecciones estafilocócicas intrahospitalarias.^{3 4 5 6}

En Europa se investigó que la prevalencia global de SARM fue del 44.4%.⁷ De acuerdo a Rojo et al⁸ La prevalencia de MRSA fue del 12% en población pediátrica en Europa.^{7 8}

En Latinoamérica de acuerdo con Reyes et al⁹ la prevalencia de MRSA es del 47% y en Perú es del 62%. De acuerdo con la PAHO¹⁰ el 2004 la prevalencia del MRSA en Perú fue del 80%. Para Tamariz et al¹¹ en Lima, Echevarría et al¹² en 1995 encontraron que la presencia de *Staphylococcus aureus* MRSA fue de un 58% respectivamente.⁹

10 11 12

La *Pseudomonas aeruginosa* es un agente bacteriano de origen hospitalario que causa del 10 a 15% de todas las infecciones nosocomiales a nivel mundial ¹³. Alvares et al ¹⁴ reportaron que en 2014 en España la prevalencia de *Pseudomonas aeruginosa* fue del 30%, Casellas et al ¹⁴ encontraron que en Latinoamérica la *Pseudomonas aeruginosa* fue resistente en un 70% a aminoglucósidos, Garcia et al ¹⁵ indicaron que en Lima durante 2009 el 50% de infecciones hospitalarias fueron causados por MRSA y *Pseudomonas aeruginosa* en un 59 %. Bolaños et al ¹⁶ indicaron que en Perú durante el 2014 la *Pseudomonas aeruginosa* tuvo una prevalencia del 21,9 %. ^{13 14 15 16}

El tratamiento de primera línea para *Stafilococos aureus* meticilino resistente son la vancomicina, la gentamicina y otros antibióticos como clotrimoxazol y para *Pseudomonas aeruginosa* la Ceftazidima y penicilinas con actividad antibetalactamasas como carbapenems, imipenem, meropenem y Piperacilina/Tazobactam según lo recomienda la OMS. ¹⁷ Últimamente se ha hido incrementando la resistencia a antibióticos por lo que se ha estado investigando la actividad antimicrobiana de varios compuestos de plantas tradicionales sobre *Staphylococcus aureus* y la *Pseudomonas aeruginosa*.¹⁸ Existen estudios donde se ha demostrado la eficacia antimicrobiana de acetites esenciales sobre varios patógenos incluidos *Staphylococcus aureus* y la *Pseudomonas aeruginosa*. ^{17 18 19}

Actualmente se están realizando varios estudios experimentales sobre el uso de extractos etanólicos, acuosos y aceites esenciales. El *Eucalyptus globulus* también conocido como “Eucalipto” posee compuestos antibacterianos como el cineol. Los experimentos sobre el uso de aceite esencial de Eucalipto en bacterias resistentes, no es muy frecuente, pero se tiene evidencia de su efecto antibacteriano in vitro por lo que sería una alternativa a los tratamientos antibióticos convencionales. ²⁰

Con respecto a los antecedentes

Bey Z, et al (Algeria, 2016) evaluaron los componentes, actividad bactericida y antioxidante del aceite hidrodestilado del fruto y las hojas de *Eucalyptus globulus* en *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* comparado con tetraciclina más gentamicina. Realizaron un estudio experimental puro. En relación a la eficacia bactericida del aceite de *Eucalyptus globulus* al 100% encontraron un halo de inhibición para *Staphylococcus aureus* de 26.7 mm y sobre *Pseudomonas aeruginosa* de 24.7 mm. Concluyeron que de las cepas evaluadas la más susceptible fue *S.aureus* de acuerdo a los valores de referencia (resistente < 6mm, intermedio de 13 a 6 mm y sensible >13 mm) ²¹

Hafsa J, et al (Túnez, 20016) investigaron las características físicas, antioxidantes y antimicrobianas de los biofilms de quitosano que contienen aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre varias bacterias *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia* y *Cándida albicans*. Diseñaron un experimento, encontraron que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* inhibió el desarrollo de *Pseudomonas aeruginosa* en (27.80 a 118.29 mm) y para *Staphylococcus aureus*, 10.56 a 61.35 mm. Encontraron que no fue efectivo sobre todas las cepas evaluadas. ²²

Mekonnen A, et al (Etiopia, 2015) identificaron la eficacia antibiótica del aceite esencial de varias plantas incluyendo *Eucalyptus globulus* in vitro sobre *S. aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. Diseñaron un modelo experimental, encontraron que *Eucalyptus globulus* presentó actividad para *S. aureus* de 34+/-1.34 mm y para *Pseudomonas aeruginosa* de 28 +/- 1.1 mm. Concluyeron que *E. globulus*, aunque fue el menos efectivo de los aceites esenciales probados pero aun así fue capaz de inhibir el crecimiento bacteriano. ²³

Pereira V, et al. (Portugal, 2014) comprobaron la eficacia antibiótica combinada del aceite esencial más extracto metanólico de las hojas de *Eucalyptus globulus* comparado con antibióticos contra varios aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* en infecciones del tracto respiratorio. Elaboraron un estudio experimental puro in vitro, encontraron que para *Pseudomonas aeruginosa* presentó un halo de 17 mm. Determinaron que el extracto hidroalcohólico mas aceite esencial de hojas de E.

globulus pueden considerarse como una terapia alternativa para infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa*.²⁴

Bachir R, et al (Algeria, 2012) determinaron la capacidad antibiótica de las hojas de *Eucalyptus globulus* sobre *Staphylococcus aureus* y *E. coli*, in vitro. Diseñaron un experimento. Se obtuvo el aceite mediante hidrodestilación. Los resultados fueron que el halo de inhibición sobre *Staphylococcus* fueron 11,20, 23 y 25 mm a concentraciones de 25, 50, 75 y 100% respectivamente.²⁵

Mulyaningsih S, et al. (Alemania, 2011) estudiaron la capacidad microbiciada del aceite esencial del *Eucalyptus globulus* contra bacterias multirresistentes. Para las muestras se usaron bacterias gram negativas multidrogorresistentes (MDR), meticilino resistentes (SARM), *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Acinetobacter baumannii*. Encontraron que la concentración mínima inhibitoria (MIC) antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus* MRSA fue de 4 mg/ml y en *Pseudomonas aeruginosa* >4 mg/ml. La composición química de los aceites aparentemente determina la propiedad antimicrobiana y los principales componentes contribuirán sin duda a la lucha o actividad antimicrobiana.²⁶

Kumar A, et al. (India, 2010) investigaron el potencial bactericida del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*, in vitro. La concentración mínima inhibitoria (MIC) para *Pseudomonas aeruginosa* fue de 9 mg/ml y la concentración bactericida mínima (MBC) de 18 mg/ml; para *Staphylococcus aureus* fue una MIC de 2.25 mg/ml y una concentración bactericida mínima (MBC) de 4.5 mg/ml, también midieron la zona de inhibición a concentraciones de 10, 20,30 y 40 µL dando resultados para *Pseudomonas aeruginosa* de 16 mm a una concentración de 40 µl. Concluyeron que *Eucalyptus globulus* presenta eficacia.²⁷

Mulyaningsiha S, et al (Alemania, 2010) comprobaron el potencial antibiótico del aceite esencial del *Eucalyptus globulus* sobre patógenos resistentes y sensibles a antibióticos. Realizaron un estudio experimental puro. Encontraron que el aceite de *Eucalyptus globulus* exhibió un efecto sobre *Staphylococcus aureus* meticilino

resistente (MRSA) con una MIC de 0.25 mg/ml y una MBC de 0.35 mg/ml y para *Pseudomonas aeruginosa* fue una MIC >8 mg/ml. Concluyeron que si tuvo efecto contra *Staphylococcus aureus* MRSA y *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes.²⁸

Bachir R, et al (Algeria, 2008) estudiaron la eficacia microbica del aceite esencial del *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus camaldulensis* sobre *Staphylococcus aureus* y *E.coli*. Fue un diseño experimental. Encontraron que el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* mostro un halo de inhibición de 16 mm para *Staphylococcus aureus*. Demostraron actividad bactericida contra gram + y gram – resistentes a los tratamientos comunes y que esta aumenta de acuerdo al incremento de la concentración.²⁹

Aylas R, (Lima, 2017) determinó el efecto microbica sinérgico del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y *Minthostachys mollis*, sobre cepas de *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, diseñó un experimento in vitro. Encontró que el efecto antibacteriano para el *Staphylococcus aureus* fue de 9.5 +/- 0.7 mm. Concluyo que las bacterias *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* fueron susceptibles a los aceites esenciales combinados.³⁰

En relación a los conocimientos generales sobre el tema

De acuerdo con lo citado por la OMS la medicina tradicional se basa en los conocimientos y experiencias tanto teóricas como prácticas en medicina de los pueblos como parte de su diagnóstico, prevención y tratamiento sin necesidad de explicación científica. También se define como medicina alternativa y complementaria al conjunto de prácticas tradicionales de un país y que no están dentro del sistema de salud principal. La OMS se refiere a los medicamentos de origen herbario a todas aquellas hierbas, materiales preparaciones y productos acabados que provengan de plantas medicinales.³¹

En la última década ha ido en aumento el interés por el uso de medicina tradicional. De acuerdo con los datos que brinda la OMS en el mundo cerca del 80% de la población mundial ha usado alguna forma de medicina tradicional, los países que más utilizan medicamentos tradicionales son los industrializados y desarrollados como en

Australia donde su población ha usado estas terapias por lo menos una vez en su vida en un 48%, Bélgica el 31%, Canadá el 70%, Estados Unidos de América el 42% y en Francia el 49%; en otros países de Latinoamérica por ejemplo en Chile su población lo ha usado en 71% y en Colombia el 40%. En china los usan cerca del 40% y en la India el 65% de la población rural usa medicina tradicional.³²

Se está desarrollando medicamentos a partir de plantas medicinales y sustancias naturales que tienen actividad biológica. Esto no solo es debido al interés científico por parte de la industria farmacéutica sino que también debido a la difusión mundial de las terapias alternativas, lo cual da un propósito a la ciencia actual para investigar las terapias tradicionales y transformarlas en conocimiento científico para que logren tener el reconocimiento y el respeto de las autoridades reguladoras internacionales más exigentes. La Etnofarmacia se encarga actualmente de integrar lo científico con los agentes biológicos activos usados tradicionalmente por el hombre. Si bien es cierto actualmente existen numerosos avances con respecto a principios activos de drogas vegetales y se conoce su mecanismo de acción, pero aún hay muchas otras drogas vegetales, extractos alcohólicos, hidroalcohólicos, acuosos para los que se desconoce las sustancias responsables de su efecto farmacológico.³³

En el Perú la medicina Tradicional es más difundida en la población en general por ser más accesible y menos costosa que la medicina convencional. En el Perú existen 84 de las 107 ecorregiones del mundo y tiene el 7% de las plantas del mundo. Según Brack (2004) en Perú solo se han estudiado el 60% de la flora peruana. El Perú es el quinto país a nivel mundial en número de plantas conocidas y usadas por la población en general. Si bien es cierto en el Perú existe el Instituto de Medicina Tradicional (IMETRA), las investigaciones de los remedios naturales son poco difundidos y en la mayoría de casos desaprovechados.³⁴

Los *Staphylococcus* son un Género de bacterias cocos grampositivas que se asemejan a la forma de racimos de uvas, son aerobios catalasa positivos y esféricos, reaccionan con la tinción gram y no poseen endosporas, tienen una enzima llamada catalasa que sirve para diferenciarlas las cuales convierten peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. ³⁵ Su tamaño varía de 0,5 μm a 1.5 μm , inmóviles y capaces de crecer en

medios anaerobios o aerobios en un medio rico en sales y a temperaturas de 18 a 40 °. Los estafilococos producen enfermedades con una amplia variedad de enfermedades que hacen peligrar la vida.³⁶

Actualmente, comprenden 45 especies y 24 subespecies. Son colonizadoras de forma normal la piel y mucosas humanas. Algunas especies tienen afinidad por ciertos tipos de tejidos humanos como las narinas anteriores donde podemos encontrar *Staphylococcus aureus*, en las glándulas sebáceas podemos encontrar *Staphylococcus capitis* en las glándulas apocrinas *Staphylococcus haemolyticus* y *Staphylococcus hominis*. El tratamiento más usado para las infecciones por estafilococos desde el inicio de la era de los antibióticos es la penicilina la cual mostró efectividad frente a cepas de estafilococos.³⁷

Con el uso prolongado y masivo de la penicilina se fueron produciendo cepas resistentes a penicilina e incluso a antibióticos con actividad antiestafilocócica. En 1960 en Guildford (Inglaterra) se informó el primer caso aislado de *Staphylococcus aureus metilino resistente* (MRSA) desde entonces ha hido en incremento en todo el mundo, siendo responsable de una gran carga de morbilidad en todo el mundo. En Chile, Ledermann (1970) objetivó la progresiva disminución de la sensibilidad antibiótica *Staphylococcus aureus* en la década de 1960, además de identificar una cepa aislada en 1967 con concentración inhibitoria mínima (CIM) de metilina mayor a 6,25 µg/mL y catalogada como resistente. En Lima en (1996) se hizo un estudio que incluía 6 Hospitales, donde se encontraron cepas MRSA en un 63,3%.³⁸

En cuanto al mecanismo de producción de resistencia a la metilina según las literaturas se conocen mecanismos como β -lactamasas, resistencia y tolerancia a las proteínas fijadoras de penicilinas (PBP). Por otro lado, el género estafilococo ha desarrollado una resistencia especial frente a penicilinas incluidas las antiestafilocócicas como oxacilina, metilina, cloxacilina, y cefalosporinas. Las nuevas proteínas fijadoras de penicilinas (PBP2a) de 78 unidades de masa atómica (kDa) se asocian al mecanismo de resistencia del MRSA ya que poseen muy baja afinidad a la metilina y a los demás betalactámicos. Existen otras formas de resistencia que involucran a diferentes genes bla y el fem.³⁹

Las *Pseudomonas* tienen una distribución extensa, plantas, animales, tierra y agua. Esta familia de bacterias son gram negativas, móviles y aerobios. De acuerdo a su importancia médica pueden clasificarse en 5 grupos de las cuales el principal patógeno para la especie humana es la *Pseudomonas aeruginosa* que pertenece al grupo I fluorescente. Forma parte de la flora intestinal, las demás *Pseudomonas* rara vez producen enfermedades. Su hábitat puede encontrarse en fuentes ambientales de agua, respiradores hospitalarios y humidificadores. En un 10 % de los individuos se desarrolla en la piel, en el tracto respiratorio superior y en el colon. ⁴⁰

La *Pseudomonas aeruginosa* cuando coloniza al ser humano normal tiene función de saprófito. Solamente causa enfermedades en sujetos con defensas inmunológicas deficientes. Tiene relevancia en las infecciones hospitalarias, especialmente en pacientes quemados y aquellos con fibrosis quística. Es móvil, abastionada y mide 1.5 a 3.8 micras de largo, muestra una disposición en bacterias individuales, en pares y a veces en cadenas cortas. No fermenta lactosa, produce el pigmento piocianina (azul verdoso). Oxidasa-positivo, lo que lo distingue de miembros de la familia Enterobacteriaceae. La transmisión ocurre a través de aerosoles acuosos, aspiración y contaminación fecal. ⁴¹

Produce enfermedades como ITU, neumonía y sepsis y puede causar endocarditis en usuarios de fármacos inyectables. Su patogénesis se explica por la endotoxina responsable de fiebre y shock asociados a sepsis. Su factor de virulencia se debe a las fracturas de la cápsula. Las de linaje con sistema de secreción tipo III son las más virulentas. Dentro de los factores que predisponen a su infección en seres humanos se encuentran las quemaduras severas y la neutropenia. Para su diagnóstico se utilizan frotis en gram y cultivo, y las pruebas serológicas son inútiles. En cuanto a la terapéutica se deben usar más de un solo antibiótico, se pueden usar penicilinas antipseudomonicas, otros fármacos son aztreonam, meropenem o imipenem pertenecientes a los carbapenems, quinolonas más recientes e incluida ciprofloxacina, las cefalosporinas más aminoglucósido activas frente a *Pseudomonas aeruginosa* es Ceftazidima y la cefoperazona. ⁴²

Puede alterar la membrana de la bacteria, citronelol también tiene efecto antibacteriano. El *Eucalyptus globulus* pertenece a la familia de las Mirtáceas, su nombre común es “Eucalipto”.⁴³ Por sus características físicas es un árbol esbelto frondoso, de corteza blanquecina, gris-azulada o verdosa, tiene hojas ovaladas, lanceoladas, no móviles de tono verde que cuando envejecen son lanceoladas – falciformes, color verde oscuro y pecioladas, produce frutos de cuatro caras asilados y sin pedúnculo de tamaño más grande que otras subespecies.⁴⁴ Esta especie es originaria de Tasmania Australia, pero fue introducida en regiones subtropicales como España, Portugal y California, Venezuela, Ecuador, Perú y Bolivia. Crece bien en medios húmedos y secos. Necesita precipitaciones de 700 a 1800 milímetros al año. De rápido crecimiento en promedio 45 a 100 metros. En el Perú se introdujo en 1870, se distribuye en la sierra predominando en Cuzco, Cajamarca, Cuzco y Ancash.⁴⁵

Los usos tradicionales del *Eucalyptus globulus* como antitusígeno, para combatir la bronquitis, resfrió, asma, sinusitis, dolor de huesos y reumatismo, se puede preparar en mediante infusión, también se usa externamente en forma de baños en enfermedades reumatológicas y también se puede inhalar el vapor en caso de enfermedades del sistema respiratorio.³⁴

Dentro de los componentes de *Eucalyptus globulus* el eucaliptol representa el 55,49% y α -pineno en un 18,18% que posee actividad insecticida.⁴⁶ Se han identificado sus componentes responsables de sus efectos terapéuticos, algunos de los más importantes son el aromandendreno, citronelal, citronelol, β Selineno de los cuales el más abundante es el eucaliptol (77-82%). El aceite esencial no presenta toxicidad significativa en mamíferos, de costo bajo, recurso renovable. Posee propiedad antibacteriano, antiséptica, antifúngica e insecticida.⁴⁷

Ejerce su efecto antimicrobiano mediante sus metabolitos más importantes dentro de los cuales están el (aromandendreno; 1,8-cineol, citronelal y citronelol), el aromandendreno ejerce su mecanismo de acción mediante un reactivo exocíclico grupo metileno y un anillo de ciclopropano que puede alquilar a las proteínas y por lo tanto perturbar la estructuras proteínicas de la bacteria lo cual lleva a la muerte de la bacteria, además debido a que este compuesto es altamente lipofílico debido a sus grupo aldehído que produce la alquilación de proteínas y ADN de la bacteria

cambiando su conformación de su estructura llevando a la muerte bacteriana además gracias a su grupo hidroxilo polar puede alterar las estructuras proteínicas y alterar la fluidez de la membrana celular. Su espectro antibiótico abarca bacterias gram negativas incluida *Pseudomonas* y gram positivas como *Staphylococcus aureus*, además sobre bacterias resistentes a antibióticos como *Staphylococcus aureus* metilino resistente MRSA y *Pseudomonas aeruginosa multiresistente*, también tiene efecto sobre hongos como *Candida albicans* y *Aspergillus*.^{26,27}

La Gentamicina es un aminoglucósido usado en infecciones graves por bacilos gram negativos, es el de primera elección debido a su menor costo y actividad confiable contra todos los aerobios gramnegativos y se puede usar de manera parenteral, oftálmica y tópica. Debido a sus efectos tóxicos suele usarse contra microorganismo resistentes y en infecciones letales, se pueden usar de manera combinada asociada a antibióticos que tengan efecto sobre la pared celular (b-lactámicos o glucopéptido)^{48,49}

De acuerdo al problema formulado

¿Tiene eficacia antibacteriana el aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* sobre *Staphylococcus aureus* metilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, comparado con gentamicina a 10 µg, en un estudio in vitro?

Con respecto a la justificación

El experimento presente se elaboró con la finalidad de evidenciar la capacidad antibiótica del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* sobre *Staphylococcus Aureus metilino resistente* MRSA y *Pseudomonas aeruginosa* que producen enfermedades infecciosas, que en ocasiones pueden ser mortales para los seres humanos. Para contrastar la eficacia antibiótica del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* se usó un antibiótico con espectro antibacteriano sobre *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus metilino resistente*, el fármaco seleccionado fue gentamicina, debido a que es eficaz las bacterias seleccionadas, en los cuales existe evidencias que tiene efecto in vitro.

La resistencia antibacteriana mundial y también en nuestro medio se está incrementando, por lo que es necesario evaluar terapias complementarias o alternativas

basadas en productos naturales. El *Eucalyptus globulus* en la terapia tradicional se ha usado como antiséptico, en la cura de enfermedades del sistema respiratorio y en otras infecciones. Los efectos del eucalipto no solo se reducen a su efecto antibiótico, también tiene efecto antifúngico, analgésico y antiinflamatorio, por lo cual se presentó una oportunidad para comprobar científicamente y de manera controlada sus efectos en la población en general y registrar si tiene el efecto que se busca sobre la salud.

Actualmente no existen muchos trabajos que se hayan estudiado sobre su efecto en cepas bacterianas resistentes como lo son el *Staphylococcus aureus* MRSA y la *Pseudomonas aeruginosa*, por lo cual es necesario tener mayores evidencias de como ejerce su efecto en cepas resistentes. Asimismo, los resultados obtenidos de la presente investigación podrán ser usadas como evidencias científicas de los efectos en la salud por futuros investigadores y empresas farmacéuticas que quieran fabricar nuevos antibióticos.

De acuerdo a la hipótesis planteada

H1: El aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* tiene eficacia antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, comparado con gentamicina a 10 µg, en un estudio in vitro.

H0: El aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* no tiene eficacia antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, comparado con gentamicina a 10 µg, en un estudio in vitro.

Respecto a los objetivos planteados

Objetivo general:

Evaluar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, comparado con gentamicina a 10 µg, en un estudio in vitro.

Objetivos específicos:

- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, al 100%, 75%, 50% y 25%.
- Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* sobre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, al 100%, 75%, 50% y 25%.
- Determinar el efecto antibacteriano de gentamicina a 10 µg sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente.
- Determinar el efecto antibacteriano de gentamicina a 10 µg sobre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

II. MÉTODO

2.1 Tipo y diseño de investigación

Experimental con repeticiones múltiples, post test.

RG1	X1 – O1
-----	---------

RG2	X2 – O2
RG3	X3 – O3
RG4	X4 – O4
RG5	X5 O5
RG6	X6 O6

Donde:

R: asignación al azar.

RG: grupos de estudio para cada cepa.

X1: Aceite esencial *Eucalyptus globulus* 25%

X2: Aceite esencial *Eucalyptus globulus* 50%

X3: Aceite esencial *Eucalyptus globulus* 75%

X4: Aceite esencial *Eucalyptus globulus* 100%

X5: Control positivo con gentamicina a 10 µg.

X6: Control negativo (DMSO)

O: medición del halo de inhibición.

2.2 Operacionalización de variables

- Variable independiente: Agente antibacteriano. Variable cualitativa.
 - a) Aceite esencial de *Eucaliptus Globulus* al (25%, 50%, 75% y 100%).
 - b) gentamicina 10 µg.
- Variable dependiente: Eficacia antibacteriana. Variable cualitativa.
 - a) Eficacia antibacteriana para cada bacteria según la norma M100 del CLSI.

Eficaz > 15 mm.

No eficaz < 15 mm.

Operacionalización

Variables	Definición Conceptual	Definición operacional	Indicador	Escala de medición
-----------	-----------------------	------------------------	-----------	--------------------

VI: Agente antibacteriano	Para el tratamiento de <i>Staphylococcus aureus</i> metilino resistente MRSA y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> se utiliza: Tratamiento no farmacológico con <i>Eucalyptus globulus</i> ²¹ Tratamiento farmacológico con Gentamicina ¹⁷	Se dividió entre 06 grupos a los cuales se les aplicó las diluciones del aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus</i> ²¹ al 100% 75% 50% 25% Gentamicina (10 mcg) DMSO Para cada bacteria estudiada.	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6	Cualitativa Nominal
VD: Eficacia antibacteriana	Se le llama a la actividad producida por un agente químico, biológico o físico sobre las bacterias mediante su eliminación (Bactericida) o inhibiendo su crecimiento y desarrollo (Bacteriostático) ⁴⁹	a. Se consideró que presenta efecto antibiótico de acuerdo con los establecido en el CLSI M100, sobre <i>Staphylococcus aureus</i> MRSA si tiene halo inhibitorio > 15 mm ⁵⁰	Es eficaz: >15 mm No es eficaz: <15 mm	Cualitativa Nominal
		b. Se consideró sensible de acuerdo con lo establecido en el CLSI M100 sobre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> si presenta un halo de inhibición >15 mm ⁵⁰	Es eficaz: >15 mm No es eficaz: <15 mm	Cualitativa Nominal

2.3 Población, muestra y muestreo:

Población: cepas cultivadas en el laboratorio de la UCV.

Unidad de análisis: cada cepa cultivada en el laboratorio de la UCV.

Unidad muestral: Cada placa de cultivo.

Muestra: La muestra se obtuvo mediante la fórmula para estudios comparativos de dos promedios, cuando la varianza es desconocida. (ANEXO 1)

Criterios de selección

Criterios de inclusión

- Cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) identificadas, sembradas y cultivadas en el Instituto de Investigación en Ciencia y Tecnología de la UCV de 1 día de crecimiento.

Criterios de exclusión

- Placas que estén contaminadas.
- Placas Petri donde no exista desarrollo bacteriano

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.

Técnica: Mediante observación directa del crecimiento de las bacterias en las placas de Petri, luego se midió los diámetros de inhibición de las bacterias cultivadas expuestas al aceite esencial a distintas concentraciones y se anotaron en una ficha.

Instrumento

En el instrumento se anotaron las repeticiones, halos de inhibición y diluciones usadas sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. (Anexo 1)

Validación y confiabilidad del instrumento

Los encargados de la evaluación del instrumento fueron profesionales de la salud (1 médico general y 2 microbiólogos) según la norma de antibiogramas (CLSI M100).

2.5 Procedimiento

- a) El Instituto de Investigación y Tecnología de la UCV otorgó el permiso para usar el laboratorio. (Anexo 5)
- b) La especie vegetal se identificó en el Herbarium Truxillense (HUT) de la UNT. (Anexo 4)

- c) Se usó el arrastre de vapor de agua para extraer el aceite esencial.⁵²(Anexo 2)
- d) Se cultivó las bacterias en el medio Mueller-Hinton, para determinar la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* MRSA y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 de acuerdo con el método de difusión en agar, de acuerdo a las normas estándar M45 del CLSI⁵²; así también se evaluó la capacidad antibiótica mediante la Norma Estándar para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana M100 del CLSI.⁴⁶ (Anexo3)

2.6 Métodos de análisis de datos

Los resultados del presente experimento se tabularon en Microsoft Excel 2013 y se analizaron mediante el estadístico SPSS v24. Para el análisis de la varianza se utilizará las pruebas estadísticas de análisis de varianza (ANOVA) y post ANOVA de Tukey.

2.7 Aspectos éticos:

El experimento se llevó a cabo de acuerdo a los estándares de seguridad establecidos por la OMS y el manual de procedimientos de bioseguridad MINSA. También se tendrán en cuenta las normas de laboratorio de la UCV.^{50 51}

III. RESULTADOS

Tabla 1. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente comparado con gentamicina a concentración de 10 µg, en un estudio in vitro.

Tratamiento	Media	DE	Error S	95% de IC para la media		Mín.	Máx.
				LI	LS		
100%	19,56	,726	,242	19,00	20,11	18	20
75%	16,22	,667	,222	15,71	16,73	15	17
50%	11,89	,782	,261	11,29	12,49	11	13
25%	8,67	,707	,236	8,12	9,21	8	10
Gentamicina	31,00	,707	,236	30,46	31,54	30	32
DMSO	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
Total	14,56	9,701	1,320	11,91	17,20	0	32

DE=Desviación Estándar; Min=Mínimo; Máx.=Máximo

Fuente reporte de resultados del SPSS versión 25

Tabla 2. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente comparado con gentamicina a concentración de 10 µg, en un estudio in vitro.

ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4966,667	5	993,333	2307,097	,000
Dentro de grupos	20,667	48	,431		
Total	4987,333	53			

Fuente reporte de resultados del SPSS versión 25

Tabla 3. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente comparado con gentamicina a concentración de 10 µg, en un estudio in vitro.

HSD TUKEY^A

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
DMSO	9	,00					
25%	9		8,67				
50%	9			11,89			
75%	9				16,22		
100%	9					19,56	
Gentamicina	9						31,00
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Fuente reporte de resultados del SPSS versión 25

Tabla 4. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 comparado con gentamicina a concentración de 10 µg, en un estudio in vitro.

Tratamiento	N	Media	DE	Error St	95% del IC para la media		Mín	Máx
					LI	LS		
100%	9	9,00	,707	,236	8,46	9,54	8	10
75%	9	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
50%	9	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
25%	9	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
Gentamicina	9	23,89	,782	,261	23,29	24,49	23	25
DMSO	9	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
Total	54	5,48	8,956	1,219	3,04	7,93	0	25

Fuente reporte de resultados del SPSS versión 25

Tabla 5. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 comparado con gentamicina a concentración de 10 µg, en un estudio in vitro.

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4242,593	5	848,519	4582,000	,000
Dentro de grupos	8,889	48	,185		
Total	4251,481	53			

Fuente reporte de resultados del SPSS versión 25

Tabla 6. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 comparado con gentamicina a concentración de 10 µg, en un estudio in vitro.

HSD TUKEY ^A				
		Subconjunto para alfa = 0.05		
	N	1	2	3
75%	9	,00		
50%	9	,00		
25%	9	,00		
DMSO	9	,00		
100%	9		9,00	
Gentamicina	9			23,89
Sig.		1,000	1,000	1,000

Fuente reporte de resultados del SPSS versión 25

IV. DISCUSIÒN

El experimento evaluó el efecto antibiótico del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 comparado con gentamicina a 10 µg, en un estudio in vitro.

En la tabla 01 Observamos diámetros de inhibición, donde encontramos que a todas las concentraciones presentaron efecto antibiótico; a la concentración de 100 % el diámetro de inhibición medio alcanzo 19,56 mm (DS $0,726 \pm 0,242$ IC 95%: de 19,00 a 20,11) entre los intervalos 18 a 20 mm; considerando que fue efectivo sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA), pero que a concentraciones de 25 y 50 % no supera los valores del CLSI (superiores a 15 mm), resultando ser eficaz solo a las concentraciones de 75 y 100 %, entonces podríamos decir que a concentraciones altas puede tener un efecto beneficioso sobre las cepas estudiadas.

En investigaciones previas los resultados fueron parecidos y significativos, superando los valores del CLSI, como el de Hafsa J, et al.²² encontraron a una dilución del 100% un halo de inhibición de 61.35 siendo más efectivo que el presente estudio debido a las diferentes características de las muestras usadas y a las bacterias, Mekonnen A. et al.²³, encontraron un halo de inhibición de 34 mm a una concentración del 100%. Los resultados de Bey Z, et al.²¹, fueron parecidos, observó un halo de 26.7 mm a una concentración del 100%. Bachir R, et al. (2012)²⁵ encontraron un halo 25 mm a la dilución de 100%. En todos los casos anteriores se obtuvieron resultados mayores al standard del LCSi resultando ser efectivas, debido a las mejores condiciones de cultivos de las muestras, mejor técnica de recolección del aceite y a un mejor control del crecimiento de las bacterias.

El análisis de varianza ANOVA (tabla 02) evidencia que los resultados fueron altamente significativos (0.000) con un valor de $p < 0.01$. Las varianzas fueron homogéneas por ello se aplicó la prueba post ANOVA, HSD TUKEY (tabla 03) lo cual comprueba el efecto de las concentraciones sobre los promedios de los halos, $p < 0,05$.

En la tabla 04 se observa las medidas de los diámetros de inhibición, donde encontramos que una concentración del 100 % presentó un halo de 9 mm (DS $0,707 \pm 0,236$ IC 95%: de 8,46 a 9,54) entre los intervalos 8 a 10 mm, considerándolo que es efectivo sobre cepas de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, pero no supera los valores de CLSI (superiores a los 15 mm) resultando no ser eficaz en esta concentración. En relación a la gentamicina, el halo fue de 23,89 mm (DS $0,782 \pm 0,261$ IC 95%: de 22,5 a 24,3) de 23 a 25 mm considerándose sensible.

El estudio que obtuvo mejores resultados obtuvo fue el de Hafsa J, et al.²² encontraron un halo de 118.29 mm a la concentración de 100%, otros estudios encontraron eficacia antibacteriana aunque de menores valores que este, como el de Mekonnen A, et al.²³ observaron que el halo de inhibición fue de 28 mm, Bey Z, et al.²¹ encontraron un halo de 24.7 mm y los estudios en los que se evidencio menor halo inhibitorio fue de Pereira V, et al.²⁴ encontraron un halo de inhibición de 17 mm. Kumar A, et al.²⁷ encontraron resultados del halo inhibitorio para *Pseudomonas aeruginosa* de 16 mm. En todos los estudios anteriores, se obtuvieron mejores resultados que el presente estudio, debido a un mejor control sobre la extracción del aceite así como de la muestra vegetal usada.

El ANOVA (tabla 05) evidencia que los resultados fueron altamente significativos (0.000) con un valor de $p < 0.01$. Las varianzas fueron homogéneas por ello se aplicó la prueba Post ANOVA de TUKEY (tabla 06) que pudo comprobar el efecto de las concentraciones sobre los promedios de los diámetros del halo de inhibición, $p < 0,05$.

El efecto antibacteriano de *Eucalyptus globulus* está relacionado con sus componentes aromandendreno; 1,8-cineol, citronelal y citronelol que son los principales metabolitos con efecto antibacteriano. Ejercen su acción mediante un mecanismo que altera la estructura de la membrana bacteriana debido a su afinidad lipídica y también produce alquilación proteínica y del ADN además de alterar la fluidez de la bacteria.

En todos los estudios anteriores se evidencio eficacia antibacteriana satisfactoria comparado al standard del CLSI de más de 15 mm siendo más efectivos que el estudio

actual. De los resultados obtenidos sobre ambas bacterias del estudio, se mostró mayor eficacia antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente que sobre *Pseudomonas aeruginosa*.

Los resultados obtenidos comparados con los estudios previos son distintos, lo cual se podría explicar debido a factores externos al estudio que influyen en la calidad de la muestra vegetal y por lo tanto el aceite esencial como la calidad del campo de cultivo, el clima, la altura, la zona de recolección, método de recolección, el tiempo de secado y el método de obtención del aceite. Esto se podría mejorar si se tiene un mejor control sobre la cepa de cultivo, una selección adecuada de la muestra teniendo en cuenta el clima, el tiempo y la temperatura para la adecuada recolección de la muestra así como una mejor técnica de extracción del aceite. De manera que aumentando la concentración podemos obtener mejores resultados.

V. CONCLUSIONES

1. El aceite esencial de *Eucalyptus globulus* fue eficaz en *Staphylococcus aureus* *meticilino resistente* (MRSA), tiene eficacia por superar el diámetro de inhibición establecido por las normas del CLSI de más de 15 mm.
2. El aceite esencial de *Eucalyptus globulus* tiene efecto antibiótico en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 a mayor concentración tiene mayor efecto antibacteriano, pero no sería considerado eficaz por no superar el halo de inhibición establecido por las normas del CLSI de más de 15 mm.
3. La gentamicina si tuvo efecto antibacteriano sobre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* *meticilino resistente* (MRSA).

VI. RECOMENDACIONES

- Aplicar en otros estudios diferentes presentaciones de los extractos a diluciones distintas a la del estudio presente contra diferentes patógenos resistentes a antibióticos y contra las mismas cepas usadas en el estudio.
- Utilizar medicamentos con poca eficacia en bacterias resistentes en combinación con aceite esencial de *Eucalyptus globulus* para estudiar si mejora la actividad antibiótica.
- Comprobar el efecto antibacteriano de aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* pero que provengan de diferentes lugares de cultivo para comprobar si tienen o no las mismas propiedades.
- Utilizar el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* frente a otros patógenos Gram positivos, Gram negativos incluyendo anaerobios.
- Ampliar el estudio, para la aplicación en animales y evaluar la eficacia antibiótica en organismo complejo, así como sus efectos adversos del aceite esencial de *Eucalyptus globulus*.

VII. REFERENCIAS

1. Cervantes E, García R, Salazar P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab (Mex) 2014; 61 (1): 28-40. (Citado: 23/10/2018) disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
2. Arteaga L, Espinosa Y, Chávez M. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* que coloniza el personal de salud de un hospital de la ciudad de Cali. Rev. Cienc. Salud (Cali)2015; 14 (1):9-19 (Citado: 23/10/2018) disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/recis/v14n1/v14n1a02.pdf>
3. Moran G, Krishndasan A, Gorwitz RJ. Infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en pacientes en el servicio de urgencias. N Engl J Med 2006; 355: 666-74. (Citado: 23/10/2018) disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16914702>
4. Fridkin SK, Hageman JC, Morrison M. Enfermedad de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en tres comunidades. N Engl J Med 2005; 352: 1436-44 (Citado: 23/10/2018) disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15814879>
5. Barrios M. Características epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de las infecciones por *Staphylococcus aureus* adquirido en la comunidad en pediatría. [Tesis doctoral]. Madrid: Departamento de Medicina, Universidad Complutense de Madrid; 2012. (Citado: 23/10/2018) disponible en: <https://eprints.ucm.es/17148/1/T34046.pdf>
6. Popovich KJ, Weinstein RA, Hota B. ¿Las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina asociadas a la comunidad están reemplazando a las cepas de MRSA nosocomiales tradicionales? Clin Infect Dis 2008; 46: 787-94 (Citado: 23/10/2018) disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18266611>
7. Sistema Europeo de Vigilancia de Resistencia Antimicrobiana (EARS). Resumen de los últimos datos sobre resistencia a los antibióticos en la Unión Europea 2010. Disponible en: (Citado: 23/10/2018). Disponible en: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-europe-2015.pdf>
8. Rojo P, Gómez C, Petrunia B, Stirbien I, Georgescu E, Avedillo P, et al. Infecciones por *Staphylococcus aureus* adquiridas en la comunidad en toda Europa. ESPID 2011: 29ª reunión anual de la Sociedad Europea de Enfermedades Infecciosas de Pediatría.

2011 La Haya. (Citado: 23/10/2018) disponible en:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5581326/>

9. Reyes J, Rincón S, Díaz L, Panesso D, Contreras GA, Zurita J, et al. Diseminación del linaje tipo 8 de *Staphylococcus aureus* USA300 resistente a la meticilina en América Latina. *Clin Infect Dis* 2009; 49: 1861-67. (Citado: 23/10/2018) disponible en:<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19911971>
10. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN et al. Encuesta de infecciones por estafilococos: frecuencia de aparición y susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos recolectados en los Estados Unidos, Canadá, América Latina, Europa y la región del Pacífico occidental para el programa de vigilancia antimicrobiana SENTRY, 1997–1999. *Clin Infect Dis*. 2001; 32 (Supl 2): S114-32. (Citado: 23/10/2018) Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11320452>
11. Tamariz J, Agapito J, Horna G, et al. *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina adquirido en la comunidad aislados en tres hospitales de Lima-Perú. *Rev Med Hered* 2010; 21(1): 4-10. (Citado: 15/06/2018) Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2010000100002
12. Echevarría J, Iglesias D. Estafilococo Meticilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. *Rev Med Hered (Lima)* 2003 (14)4. (Citado: 15/06/2018). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2003000400008
13. Martínez D, Núñez D. *Pseudomonas Aeruginosa* y la Implicación de los Mecanismo de Resistencia. *Arch Salud Sin (Mex)* 2011; 5 (3): 80 -85. (Citado: 23/10/2018) disponible en: https://www.researchgate.net/publication/317424607_Determinacion_de_genes_que_codifican_la_resistencia_de_betalactamasas_de_espectro_extendido_en_bacilos_Gram_negativos_aislados_de_urocultivos
14. Álvarez J, Lamas L, González L, Rodríguez I, Fernández M, Arca A, et al. Resistencia a carbapenemas en *Pseudomonas aeruginosa* aisladas en urocultivos: prevalencia y factores de riesgo. *Rev Esp Quimioter* 2017; 30(3): 195-200. (citado: 17/07/2018) Disponible en: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/30/3/alvarez25apr2017.pdf>

15. Garcia C. Resistencia antibiótica en el Perú y América Latina. Acta Med Per(LIMA) 29(2) 2012. (Citado: 15/06/2018. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172012000200010)
16. Bolaños C, Iannacone J. Patrones fenotípicos de resistencia en Pseudomonas aeruginosa de muestras clínicas a nivel de Sudamérica. Cátedra Villarreal (Lima, Perú) 2016; 4(1): 73 – 100. (Citado el: 17/07/2018) disponible en: <http://revistas.unfv.edu.pe/index.php/RCV/article/view/64/64>
17. Organización Mundial de la Salud. Reunión conjunta FAO/OMS/OIE de expertos sobre los antimicrobianos de importancia crítica. Roma: OMS; 2011. Disponible en: <http://www.fao.org/3/i0204s/i0204s00.pdf>
18. Torrenegra M, Paola N, León G. Actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales de diferentes especies del género Citrus. Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm 2017; Vol. 46(2), 160-175. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/67934>
19. Aragote F, Suares F, Tobar M, Pérez J, Hurtado A, Delgado J. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial 2017; (2): 52-60. (Citado: 23/10/2018) disponible en: http://www.congreso.gob.pe/Docs/comisiones2016/Agraria/files/informes/libro_desarrollo_sector_agropecuario_2017.pdf
20. Matiz C, León G, Osorio M. Actividad antibacteriana in vitro de diecinueve aceites esenciales frente a bacterias asociadas al acné. Revista Cubana de Farmacia. 2015; 49(1):103-116. (Citado: 23/10/2018) disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=64047>
21. Bey Z, Haddadi H, Boulekbache L, Rigoub P, Remini H, Adjaoud A, et al. Composición de aceites esenciales, actividades antibacterianas y antioxidantes del extracto hidrodestilado de frutos de Eucalyptus globulus. Cultivos y productos industriales 2016; 89 (1): 167–175 (citado: 15/06/2018). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669016303351>
22. Hafsa J, Smach M, Khedher B, Charfeddine B, Limem K, Majdoub H, et al. Propiedades físicas, antioxidantes y antimicrobianas de las películas de quitosán que contienen aceite esencial de Eucalyptus globulus, LWT - Ciencia y Tecnología de los

- Alimentos 2016 (citado: 15/06/2018). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643815304072>
23. Mekonnen A, Yitayew B, Tesema A, Taddese S. Actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de timo schimperi, Matricaria chamomilla, Eucalyptus globulus y Rosmarinus officinalis. Revista Internacional de Microbiología 2016. (citado: 15/06/2018). Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2016/9545693/>
 24. Pereira V, Dias C, Vasconcelos M, Rosa E, Saavedra M. Actividad antibacteriana y efectos sinérgicos entre residuos de hojas de Eucalyptus globulus (aceites esenciales y extractos) y antibióticos contra varios aislamientos de infecciones del tracto respiratorio (Pseudomonas aeruginosa). Cultivos y productos industriales 2014; (54): 1–7. (Citado: 10/07/2018). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669013005438>
 25. Bachir R, Benali M. Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de las hojas de Eucalyptus globulus contra Escherichia coli y Staphylococcus aureus. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 2012; 739-742. (citado: 10/07/2018). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3609378/>
 26. Mulyaningsih S, Sporer F, Reichling J, Wink M. Actividad antibacteriana de aceites esenciales de Eucalyptus y de componentes seleccionados contra patógenos bacterianos resistentes a múltiples fármacos. Biología farmacéutica (alemania) 2011; 49 (9): 893-899. (Citado: 08/07/2018). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21591991>
 27. Kumar A, Malik A. Potencial antimicrobiano y composición química del aceite de Eucalyptus globulus en fase líquida y vapor contra microorganismos que dañan los alimentos. ALASKA. Tyagi, A. Malik / Food Chemistry 2011; (126): 228-235. Citado: (08/07/2018). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814610014093>
 28. Mulyaningsih S, Sporer F, Zimmermann S, Reichling J, Wink M. Propiedades sinérgicas de los terpenoides aromadendreno y 1,8-cineol del aceite esencial de Eucalyptus globulus contra patógenos sensibles a los antibióticos y resistentes a los antibióticos. Fitomedicina. 2010; (126): 1061-1066. (citado: 08/07/2018). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20727725>

29. Bachir R, Benali M. Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de las hojas de *Eucalyptus globulus* y *Eucalyptus camaldulensis*. *Revista Africana de Farmacia y Farmacología* 2008; 2 (10): 211-215, diciembre. (Citado: 08/07/2018). Disponible en: http://www.academicjournals.org/article/article1380823069_Ghalem%20and%20Mohamed.pdf
30. Aylas c. Evaluación de la efectividad antimicrobiana de un colutorio a base de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* Labill (Eucalipto) y *Minthostachys* sp. (Muña), frente a *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Staphylococcus aureus* ATCC 29737 y *Candida albicans* ATCC 10231. [Tesis Profesional]. Lima: Facultad de Farmacia y Bioquímica Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica, Universidad Wiener; 2017. (Citado: 08/07/2018). Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/1087>
31. Organización Mundial de la Salud. Pautas Generales para las metodologías de Investigación y Evaluación de la Medicina Tradicional. Ginebra: OMS; 2002. VI, 75. (Citado: 23/10/2018) disponible en: <https://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js4930s/>
32. OMS. Medicina Tradicional. 56ª Asamblea mundial de la Salud; 2003 Marzo 31- Junio 2; Ginebra, Suiza. Ginebra: OMS; 2003. (Citado: 23/10/2018) disponible en: <https://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s2299s/s2299s.pdf>
33. Prieto S, Garrido G, Gonzales J, Molina J. Actualidad de la medicina Tradicional Herbolaria. *Rev CENIC Ciencias Biológicas* 2004; 1(35): 19-36. (Citado: 23/10/2018) disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1812/181226086004.pdf>
34. Bussmann R, Douglas S. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia, la flora mágica y medicinal del Norte del Perú. 1ed. Trujillo:Graficart;2015 (Citado: 23/10/2018) disponible en: <http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/10/916684/plantas-medicinales-de-los-andes-y-la-amazonia-la-flora-magica-Qa3dgqr.pdf>
35. Murray P, Rorenthel K, Pfaller M. Microbiología médica. 8ed. Barcelona: Elsevier; 2016. (citado: 20/06/2018) disponible en: <https://www.elsevier.com/books/microbiologia-medica/murray/978-84-9113-076-5>
36. Kenneth R, Ray G, Ahmad N, Lawrence W, Plorde J. Sherris Microbiología médica. 5ed. Mexico DF: Mc Graw Hill; 2011. (citado: 20/06/2018) disponible en: https://onlyfastcom.files.wordpress.com/2017/02/sherris_microbiologia_medica_5ed_rya_n.pdf

37. Barber M. estafilococos resistentes a la meticilina. J Clin Pathol 1961; 14: 385-93.
citado: 10/07/2018) Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC480239/>
38. Echevarria J, Ore L, Zerpa R, et al. Prevalencia de cepas de estafilococos resistentes a la metililina, en pacientes hospitalizados y susceptibilidad a la teicoplanina en Lima, Perú. Sidney - Australia: XX Congreso Internacional de Quimioterapia. Sociedad Internacional de Quimioterapia; junio 1997. (citado: 10/07/2018) disponible en:<http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v26n1/a06v26n1.pdf>
39. Camarena J.J., Sánchez R. Infecciones por Staphylococcus aureus resistente a meticilina. Departamento de Microbiología. Hospital Universitario Dr. Peset, Valencia. España. Control de Calidad SEIMC. Disponible en http://www.seimc.org/control/revi_Bacte/pdf/sarm.pdf 2002. (citado: 10/07/2018)
40. Brooks G, Carroll K, Butel J, Morse S, Mietzner T. Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 25. ed. Mexico DF: Mc Graw Hil; 2010. (citado: 10/07/2018) disponible:
http://redlagrey.com/files/Microbiologia_Medica_Jawetz_25_www.rinconmedico.smffy.com.pdf
41. Montero M. Pseudomonas aeruginosa multiresistente: aspectos epidemiológicos, clínicos y terapéuticos. [Tesis Doctoral]. España, Barcelona: Universidad Autonoma de Barcelona – departamento de medicina, 2012. (Citado: 10/07/2018). Disponible: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/107902/mmm1de1.pdf?seque>
42. Pardo F, Tirado M, García E, Ortega J, Campos A, Moreno R. Pseudomonas aeruginosa: resistencia antimicrobiana en aislados clínicos. Castellón 2004 – 2008. Rev Esp Quimioter 2010; 23(1):20-26. (Citado: 10/07/2018). Disponible en: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/23/1/pardo.pdf>
43. Samaniego C. Efecto de un incendio forestal en una plantación de Eucalyptus globulus Labill. subsp. globulus en Huaraz. . [Tesis Profesional]. Lima: Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Nacional Agraria la Molina, 2013. (citado: 17/07/2018) Disponible en:
<http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1762/K70-S187-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
44. García J. Modelización del crecimiento y la producción de plantaciones de Eucalyptus Globulus LABILL en el noroeste de España. . [Tesis doctoral]. Santiago de

Compostela: Departamento de Enxeñaría Agroforestal, Escola Politécnica Superior, Universidad de Santiago de Compostela; 2015. (citado: 17/07/2018) Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/75994613.pdf>

45. Alfaro, R. Captura de Carbono en Rebrotos de *Eucalyptus globulus* Labill “eucaliptus” en motil, provincia de Otuzco del departamento de la Libertad-Perù. [Tesis Magistral]. Trujillo: Unidad de Posgrado En ingeniería, Escuela de Posgrado, Universidad Nacional de Trujillo; 2017. (citado: 17/07/2018) Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/7969/Tesis%20Maestr%C3%ADaX%20-%20Rafael%20O.%20Alfaro%20Nure%C3%B1a.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
46. González R, Silva G, Urbina A, Gerding M. Aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill Y *Eucalyptus nitens* H. Deane & maiden (myrtaceae) para el control de *Sitophilus zeamais* motschulsky. Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia (2016) 32(3):110-116. Citado: (17/07/2018) disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/chjaasc/v32n3/aop0516.pdf>
47. Yáñez X, Cuadro O. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de las especies *Eucalyptus globulus* y *E. camaldulensis* de tres zonas de Pamplona (Colombia). Rev Ciencias Básicas 2012; 10 (1):52-61. Citado: (17/07/2018). Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/903/90326398003.pdf>
48. Bernal M, Guzmán M. El antibiograma de discos, normalización de la técnica de Kirby – Bauer. Biomédica 1984; 4(4). Citado:(17/07/2018). Disponible en: <https://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/viewFile/1891/1917>
49. Katzung B, Trevor A. Farmacología Básica y Clínica. Ed. 13. Mexico, DF: Mc Graw Hill; 2016. Pag 776-779. Citado: 17\07\2018. Disponible en: <https://www.worldcat.org/title/farmacologia-basica-y-clinica-13a-ed/oclc/951593446>
50. CLSI. Estándares de rendimiento para pruebas de susceptibilidad antimicrobiana; Suplemento Informativo vigésimo sexto. Documento CLSI M100-S26. Wayne, PA: Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio; 2016. Citado: 02 \ 09 \ 2018. Disponible en: <http://ljzx.cqrmhospital.com/upfiles/201601/20160112155335884.pdf>
51. Roldán J, E de Gonzales, Morales R. Efecto repelente del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* contra la picadura de *Lutzomyia peruensis* en condiciones experimentales. REBIOL 2012; 32 (2): 91-98 (julio-diciembre 2012). Citado: 02 \ 09 \ 2018. Disponible en:

http://www.facbio.unitru.edu.pe/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=135&tmpl=component&format=raw&Itemid=62

52. Quilca c. Rendimiento de aceites esenciales en hojas y opérculos de *Eucalyptus globulus* Labill – bosque el dorado el tambo, Huancayo. [Tesis Profesional]. Huancayo: Facultad de Ciencias Forestales y del ambiente, Universidad Nacional del Centro del Perú; 2011. (Citado: 02/09/2018). Disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/2603/Quilca%20Rivera.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
53. Lipa F. “Estudio comparativo en el proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalipto globulus* Labill) mediante el método de destilación por arrastre de vapor y el método de hidrodestilación asistido por radiación microondas”. [Tesis Profesional]. Arequipa: Escuela Profesional de Ingeniería Química, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, 2014. (citado: 02/09/2018). Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/unsa/3986/iqlihufg025.pdf?sequence=1>
54. Organización Mundial de la Salud. Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3 ed. Ginebra: OMS; 2005. (citado: 06/09/2018). Disponible en: https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf
55. Instituto Nacional de salud, MINSA. Manual de Procedimientos de Bioseguridad en laboratorios de ensayo, biomédicos y clínicos. Lima, Perú: Instituto Nacional de salud, MINSA; 2005. (citado: 06/09/2018). Disponible en: <https://web.ins.gob.pe/sites/default/files/Archivos/Manual%20de%20bioseguridad%20-%20INS.pdf>
56. CLSI. Métodos para la dilución de antimicrobianos y la prueba de la capacidad de disco de bacterias poco frecuentes o rápidas. 3ª ed. CLSI directriz M45. Wayne, PA: Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio; 2016. Citado: 06 \ 10 \ 2018. Disponible en: https://clsi.org/media/1450/m45ed3_sample.pdf

VIII. ANEXOS

ANEXO 1

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma_{\delta}^2}{\delta^2}$$

Donde:

$Z_{\alpha/2}$: 2.58 Para un nivel de confianza del 99%.

Z_{β} : 0.84 Para Una Potencia de Prueba del 80%.

σ^2 : 1.34. ²³

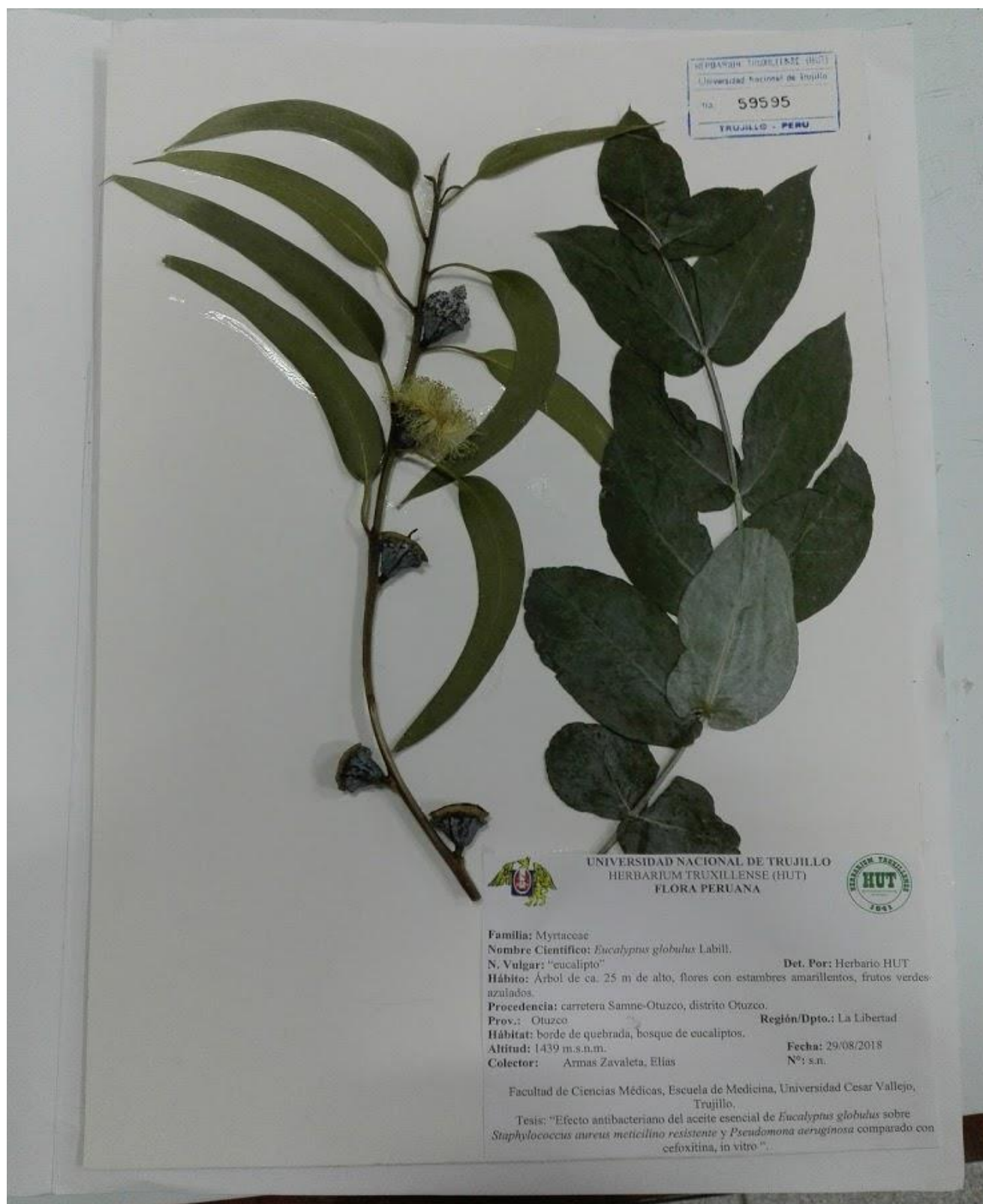
n: 15.67 ~ 16

Para *Staphylococcus aureus* = 16 x 6 = 96 repeticiones. (9 repeticiones como significativas)

Para *Pseudomonas aeruginosa* = 16 x 6 = 96 repeticiones.

ANEXO 02

A) CERTIFICACIÓN DE LA PLANTA POR EL HERBARIUM TRUXILLENSE



ANEXO 3

PROCESO DE EXTRACCION DEL ACEITE ESENCIAL DE LA PLANTA

Tratamiento de la muestra:

Recolección de muestras botánicas e Identificación de la especie *Eucalyptus globulus*.

La recolección de las plantas se realizó en el bosque de Eucaliptos de la carretera Samne - Otuzco (1439 msnm), departamento de la Libertad durante el mes agosto del 2018. Se recolectaron mediante la poda de ramas, hojas jóvenes y adultas al azar de diferentes partes de los árboles de varios puntos diferentes del bosque, se recolectaran 5 kilogramos de hojas jóvenes y adultas. Para obtener las flores y frutos con la finalidad de la clasificación taxonómica por el Herbario Trujillano de la Universidad Nacional de Trujillo se tuvo que talar un árbol porque estas se ubican en las copas de los árboles. Se eligieron las hojas jóvenes más frescas, ausentes de manchas para luego ser enviadas al Centro de Salud complementaria de Essalud donde se realizará la extracción de los aceites esenciales.⁵⁰



Secado y lavado de las hojas

6 kilogramos y medio de hojas se lavaron en primera instancia para eliminar el polvo, contaminantes e impurezas que puedan contener con agua potable corriente a las cuales se considera “muestra fresca” (MF). Luego se procedió a secar las hojas en un ambiente seco, a la sombra por un tiempo promedio de 3 a 4 días extendidas sobre láminas de papel, las

hojas secas se trituraron en pequeños fragmentos y se almacenarán en bolsas negras de plástico considerándose “muestra seca” (MS).⁵¹



Para obtener el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* se usó el método de arrastre de vapor de agua- El líquido obtenido por este método se separó en dos fases por diferencia de densidades, consiguiéndose así el aceite esencial al 100%, reservándose a 4 grados centígrados. Posteriormente se prepararon las cuatro concentraciones: 100%, 75%, 50% y 25%. A partir de cada una de las concentraciones se prepararon los discos de sensibilidad. El disco con gentamicina fue el control positivo.

Se prosiguió con la preparación del inóculo se hizo en un tubo de ensayo estéril con una alícuota de *Staphylococcus aureus*. De modo similar se procedió con *Pseudomonas aeruginosa*. A partir de cada una de las concentraciones se prepararon los discos de sensibilidad. El disco con gentamicina fue el control positivo.

Para la lectura se usó la regla de Verner, midiendo el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano, interpretándose como sensible o resistente basándose en el estándar M100 del CLSI.^{50, 56}



ANEXO 04

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS PARA MEDIR EL TAMAÑO DE LOS HALOS DE INHIBICION (mm) SOBRE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (MRSA) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC) 27853.

	Zona de inhibición para <i>Staphylococcus aureus</i> (mm)						Zona de inhibición para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (mm)					
Nº	Aceite esencial de eucalipto				Gentamicina	DMSO	Aceite esencial de eucalipto				Gentamicina	DMSO
	100%	75%	50%	25%			100%	75%	50%	25%		
1	20	17	12	8	32	0	10	0	0	0	25	0
2	18	16	11	9	31	0	9	0	0	0	23	0
3	19	17	13	9	31	0	8	0	0	0	24	0
4	20	15	11	9	31	0	9	0	0	0	24	0
5	20	16	12	9	30	0	9	0	0	0	24	0
6	19	16	12	8	32	0	10	0	0	0	23	0
7	20	16	13	10	31	0	9	0	0	0	25	0
8	20	16	11	8	31	0	8	0	0	0	23	0
9	20	17	12	8	30	0	9	0	0	0	24	0

ANEXO 5

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Staphylococcus aureus

HSD Tukey

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
100%	75%	3,333*	,309	,000	2,42	4,25
	50%	7,667*	,309	,000	6,75	8,58
	25%	10,889*	,309	,000	9,97	11,81
	Gentamicina	-11,444*	,309	,000	-12,36	-10,53
	DMSO	19,556*	,309	,000	18,64	20,47
75%	100%	-3,333*	,309	,000	-4,25	-2,42
	50%	4,333*	,309	,000	3,42	5,25
	25%	7,556*	,309	,000	6,64	8,47
	Gentamicina	-14,778*	,309	,000	-15,70	-13,86
	DMSO	16,222*	,309	,000	15,30	17,14
50%	100%	-7,667*	,309	,000	-8,58	-6,75
	75%	-4,333*	,309	,000	-5,25	-3,42
	25%	3,222*	,309	,000	2,30	4,14
	Gentamicina	-19,111*	,309	,000	-20,03	-18,19
	DMSO	11,889*	,309	,000	10,97	12,81
25%	100%	-10,889*	,309	,000	-11,81	-9,97
	75%	-7,556*	,309	,000	-8,47	-6,64
	50%	-3,222*	,309	,000	-4,14	-2,30
	Gentamicina	-22,333*	,309	,000	-23,25	-21,42
	DMSO	8,667*	,309	,000	7,75	9,58
Gentamicina	100%	11,444*	,309	,000	10,53	12,36
	75%	14,778*	,309	,000	13,86	15,70
	50%	19,111*	,309	,000	18,19	20,03
	25%	22,333*	,309	,000	21,42	23,25
	DMSO	31,000*	,309	,000	30,08	31,92
DMSO	100%	-19,556*	,309	,000	-20,47	-18,64
	75%	-16,222*	,309	,000	-17,14	-15,30
	50%	-11,889*	,309	,000	-12,81	-10,97
	25%	-8,667*	,309	,000	-9,58	-7,75
	Gentamicina	-31,000*	,309	,000	-31,92	-30,08

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 6

Comparaciones múltiples


Variable dependiente: *Pseudomonas aeruginosa*

HSD Tukey

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
100%	75%	9,000*	,203	,000	8,40	9,60
	50%	9,000*	,203	,000	8,40	9,60
	25%	9,000*	,203	,000	8,40	9,60
	Gentamicina	-14,889*	,203	,000	-15,49	-14,29
	DMSO	9,000*	,203	,000	8,40	9,60
75%	100%	-9,000*	,203	,000	-9,60	-8,40
	50%	,000	,203	1,000	-,60	,60
	25%	,000	,203	1,000	-,60	,60
	Gentamicina	-23,889*	,203	,000	-24,49	-23,29
	DMSO	,000	,203	1,000	-,60	,60
50%	100%	-9,000*	,203	,000	-9,60	-8,40
	75%	,000	,203	1,000	-,60	,60
	25%	,000	,203	1,000	-,60	,60
	Gentamicina	-23,889*	,203	,000	-24,49	-23,29
	DMSO	,000	,203	1,000	-,60	,60
25%	100%	-9,000*	,203	,000	-9,60	-8,40
	75%	,000	,203	1,000	-,60	,60
	50%	,000	,203	1,000	-,60	,60
	Gentamicina	-23,889*	,203	,000	-24,49	-23,29
	DMSO	,000	,203	1,000	-,60	,60
Gentamicina	100%	14,889*	,203	,000	14,29	15,49
	75%	23,889*	,203	,000	23,29	24,49
	50%	23,889*	,203	,000	23,29	24,49
	25%	23,889*	,203	,000	23,29	24,49
	DMSO	23,889*	,203	,000	23,29	24,49
DMSO	100%	-9,000*	,203	,000	-9,60	-8,40
	75%	,000	,203	1,000	-,60	,60
	50%	,000	,203	1,000	-,60	,60
	25%	,000	,203	1,000	-,60	,60
	Gentamicina	-23,889*	,203	,000	-24,49	-23,29

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 7




San José
LABORATORIO CLÍNICO
Calidad y profesionalismo al servicio de tu salud

CONSTANCIA DE EJECUCIÓN DE PROYECTO

El Laboratorio "San José" deja constancia que ha prestado sus instalaciones, en donde el Sr. ELÍAS ARMAS ZAVALETA estudiante de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, ejecutó la parte experimental de su proyecto de tesis titulado "Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Staphylococcus aureus* meticilino resistente y *Pseudomonas aeruginosa* comparado con gentamicina", durante los días 14 al 26 de noviembre de 2018, bajo la orientación y asesoramiento del Microbiólogo Jaime Abelardo Polo Gamboa.

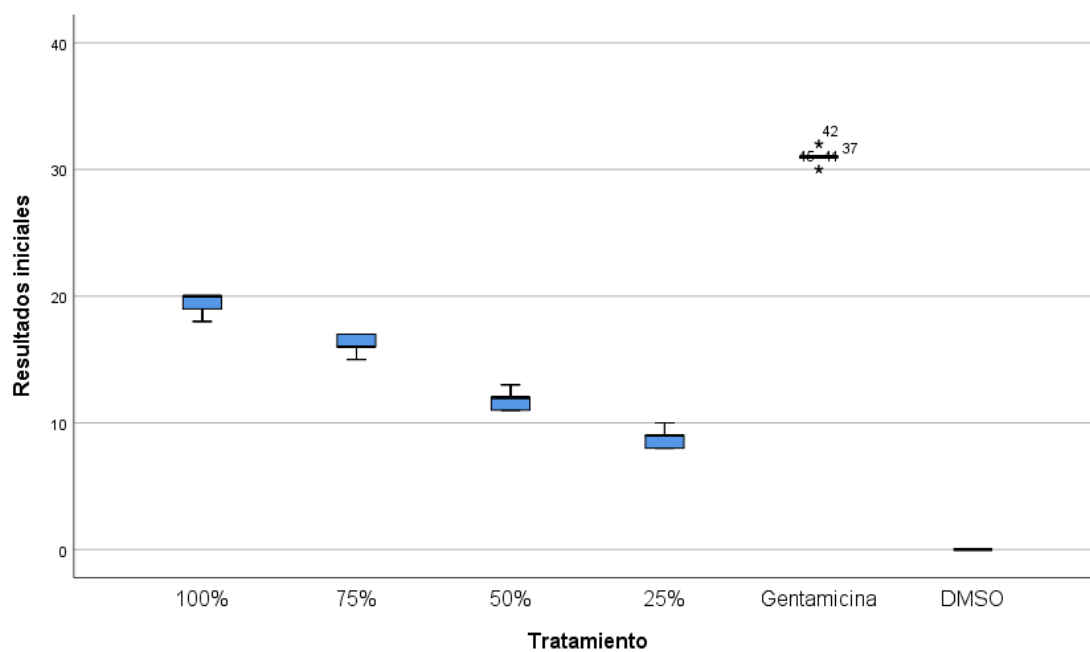
Se expide la presente a solicitud del estudiante, sólo para fines académicos, a los 5 días del mes de diciembre de 2018.



José Luis Cullio Quevedo
MICROBIOLOGO - MICROBIOLOGO
C.B.P. 8301

Sede Principal: Francisco Bolognesi 678 Of. 203 - Centro Histórico - Trujillo
Sucursales: Los Corales 277- Barrio Médico Urb. Santa Inés - Trujillo
☎ 769999 - ☎ 948649844
✉ sanjoselabs@hotmail.com 🌐 www.sanjoselabs.amawebs.com/

ANEXO 8



Fuente: reporte de resultados del SPSS versión 25

Gráfico 01: Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Staphylococcus aureus metilino resistente (MRSA)* comparado con gentamicina.

ANEXO 9

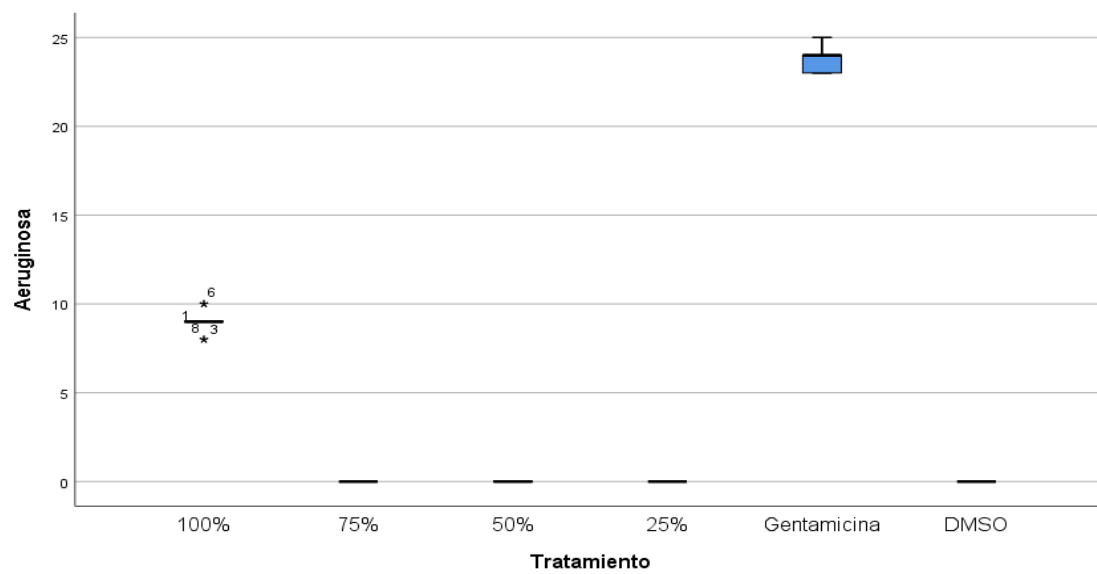


Gráfico 02: Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC) 27853 comparado con gentamicina.